**TRABAJO PRÁCTICO N° 7**

**METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS**

**OBJETIVOS**

* Comprender la importancia de los aminoácidos por su valor fisiológico en el organismo
* Conocer el proceso de digestión y absorción de los aminoácidos.
* Entender el proceso de degradación de aminoácidos: reacciones de transaminación, desaminación oxidativa. Ciclo de la Urea.
* Realizar el balance energético del proceso de degradación.
* Adquirir conocimientos sobre las importantes funciones precursoras de los aminoácidos

**INTRODUCCIÓN**

El metabolismo de los aminoácidos se halla en estado dinámico, al igual que el de los hidratos de carbono y lípidos. Los aminoácidos que forman parte de la “reserva metabólica” del organismo tienen dos orígenes: exógeno y endógeno.

Los de origen endógeno constituyen las 2/3 partes y corresponden a las proteínas tisulares que están en constante recambio. Los de origen exógeno provienen de las proteínas contenidas en los alimentos y constituyen el tercio restante del total.

Los aminoácidos poseen muchas funciones importantes en la materia viviente. Forman parte de todas las proteínas,sean éstas estructurales (colágeno, elastina); funcionales (miosina del músculo, hemoglobina); protectoras (queratina del pelo y uñas); catalíticas (enzimas), etc. Participan también en la biosíntesis de muchos constituyentes esenciales tales como: nucleótidos (púricos y pirimidínicos); hormonas (tiroxina y adrenalina); coenzimas, porfirinas, etc.

Cuando no son utilizados para biosíntesis, o en ciertas condiciones metabólicas o patológicas como en el ayuno prolongado o en la diabetes mellitus no tratada, los aminoácidos pueden degradarse perdiendo el grupo amino y sus carbonos pueden ser utilizados como fuente de energía o para la síntesis de glucosa. Los grupos amino se eliminan como urea y los esqueletos carbonados convergen en el ciclo de Krebs.

En los organismos, el 90% de las necesidades energéticas son cubiertas por los hidratos de carbono y las grasas. El 10% restante es proporcionado por la oxidación de los aminoácidos.

**Digestión de proteínas**

A diferencia de los hidratos de carbono y lípidos una parte significativa de la digestión de proteínas tiene lugar en el **estómago**. Al llegar las proteínas al estómago, se libera la hormona gastrina, la que estimula la secreción de ácido clorhídrico (producido por las células parietales de la mucosa gástrica) y del pepsinógeno (producido por las células principales). El pepsinógeno, que es un precursor inactivo de la enzima (zimógeno), por la acidez del jugo gástrico y también autocatalíticamente se convierte en pepsina que es la enzima activa. Se separan 42 aminoácidos a partir del extremo amino-terminal del zimógeno.

HCl

Pepsinógeno ***Pepsina***

pH 1,5-2,5

A medida que el contenido ácido del estómago pasa al intestino, el pH bajo provoca la liberación de la hormona secretina en sangre, la cual estimula al páncreas para la producción de bicarbonato, que se vuelca al intestino y neutraliza el pH ácido y lo aumenta desde 1,5-2,5 hasta aproximadamente 7,5. La digestión de proteínas se completa en el **intestino delgado** por la acción de enzimas proteolíticas, sintetizadas por las células exócrinas del páncreas como zimógenos (tripsinógeno, quimotripsinógeno, procarboxipeptidasas y proelastasa). La *enteroquinasa* segregada por las células de la mucosa intestinal, hidroliza al tripsinógeno convirtiéndolo en tripsina. La tripsina a su vez activa los cuatro zimógenos pancreáticos por hidrólisis de una secuencia polipeptídica de cada una de las proteínas (Fig. 7.1). La síntesis de los compuestos en forma inactiva protege a las células exócrinas del ataque proteolítico que las destruiría. El páncreas se protege también contra la autodigestión porque elabora un inhibidor de tripsina.

**TRIPSINÓGENO**

***TRIPSINA***

***ENTEROQUINASA***

**QUIMOTRIPSINÓGENO**

***QUIMOTRIPSINA***

**PROCARBOXIPEPTIDASAS A Y B**

***CARBOXIPEPTIDASAS A Y B***

***ELASTASA***

**PROELASTASA**

**Fig 7.1** Esquema del proceso de activación de las enzimas proteolíticas pancreáticas.

**Absorción de aminoácidos**

Los aminoácidos se absorben en el intestino delgado mediante mecanismos de **transporte mediado activo** que requieren ATP y proteínas transportadoras específicas. Estas proteínas transportadoras, sin embargo, no son específicas para cada aminoácido sino para grupos de aminoácidos.

Los aminoácidos absorbidos son transportados por la sangre como **aminoácidos libres**, en su mayoría, hacia el hígado, sitio primario del metabolismo de los mismos y a otros órganos o tejidos para su utilización. Los aminoácidos no utilizados en la formación de proteínas, pueden ser convertidos en otros constituyentes nitrogenados esenciales como se muestra en el siguiente esquema que resume las vías metabólicas de los mismos (Fig. 7.2).

## Fuentes exógenas (aprox. 70 g/ día) Fuentes Endógenas (aprox. 140 g/ día)

Proteínas de la dieta **Síntesis** (aminoácidos no esenciales), Proteínas tisulares,

*Digestión*  enzimas, hormonas proteicas, etc.

*y absorción* *Síntesis y degradación*

**RESERVA DE AMINOÁCIDOS**

**Excreción renal** Transaminación Síntesisde ***Constituyentes tisulares***

Aminoácidos excedentes Desaminación  ***nitrogenados no proteicos*:** purinas,

( 0,9 a 1,0 g/ día) pirimidinas niacina, porfirinas epinefrina,

Tiroxina, colina, creatina ácidos biliares

**HÍGADO** melanina, productos de desintoxicación, etc.)

Amoníaco

- cetoácidos Urea

Oxidación, etc Orina

Glucosa, cuerpos cetónicos, etc.

Acetil CoA. Ciclo del Ácido Cítrico

CO2 + H2O + ATP

**Fig 7.2** Esquema resumido del metabolismo de los aminoácidos

**Degradación de los aminoácidos**

La degradación de los aminoácidos implica: **pérdida del grupo amino** y **destino del esqueleto carbonado**. Los grupos aminos son recogidos y transformados en un producto de fácil excreción (amoníaco o urea) y los esqueletos carbonados pueden convertirse en otros metabolitos (glucosa por gluconeogénesis, cuerpos cetónicos por cetogénesis) u oxidarse en el ciclo de Krebs para producir CO2, H2O y ATP.

La pérdida del grupo amino se realiza a través de 3 tipos de reacciones diferentes:

1) Transaminación

2) Desaminación Oxidativa

3) Desaminación No Oxidativa.

La pérdida neta del grupo amino de la mayoría de los aminoácidos se llevan a cabo por dos rutas metabólicas consecutivas: **Transaminación** y **Desaminación oxidativa.**

**1.- Reacciones de Transaminación**

Las reacciones de transaminación son reversibles, están catalizadas por enzimas denominadas *transaminasas o aminotransferasas*, estas requieren como grupo prostético a la Vitamina B6 o fosfato de piridoxal (PPL) el que actúa como un transportador de los grupos amino.

En estas reacciones se transfiere el grupo amino de un -aminoácido a un -cetoácido, los productos de la reacción son un nuevo aminoácido y cetóacido. La ecuación general es:

**R**  *R'* **R** *R'*

⎜ ⎜ ***transaminasa*** ⎜ ⎜

+H3 N - C -H + C=O C=O + +H3N - C -H

⎜ ⎜ fosfato de ⎜ ⎜

COO- COO- piridoxal COO- COO-

La mayoría de los aminoácidos cuando se degradan transaminan con **-cetoglutarato** dando lugar a la formación de **glutamato**. En las células existen dos transaminasas que frente a un daño tisular son volcadas a la circulación general pudiendo ser determinadas en suero por métodos específicos. Estas enzimas son:

a) *Glutámico pirúvico transaminasa o alanina aminotransferasa* (GPT)

b) *Glutámico oxalacético transaminasa o aspartato aminotransferasa* (GOT).

Estas dos enzimas son utilizadas en el diagnóstico clínico para diagnosticar o para seguir la evolución de un tratamiento en enfermedades de origen hepático o cardíaco.

*GPT*

a- L-alanina + -cetoglutarato piruvato + L-glutamato

***PPL***

*GOT*

b - L-aspartato +  cetoglutarato oxalacetato + L-glutamato

***PPL***

**2.-Desaminación Oxidativa**

La reacción de desaminación oxidativa es catalizada por la enzima mitocondrial ***glutamato deshidrogensa.*** Esta enzima cataliza reversiblemente la separación del grupo amino del glutamato. El amoníaco liberado puede unirse al alfa -cetoglutarato para generar L-glutamato, por lo tanto sirve también como una vía de síntesis. La enzima utiliza como coenzima NAD y NADP. En la reacción directa generalmente participa el NAD+ y se forma -cetoglutarato y amoníaco. Esta es una enzima alostérica siendo sus moduladores positivos ADP y GDP y sus moduladores negativos ATP y GTP.

COO- COO-

⏐ ⏐

CH2 ***Glutamato*** CH2

⏐ ***Deshidrogenasa*** ⏐

CH2  + H2O + NAD- CH2 + **NH4+** + NADH + H+

⏐ (NADP-) ⏐ (NADPH)

+H3N- C-H (+) ADP-GDP C=O

⏐ (-) ATP-GTP ⏐

COO-  COO-

L-Glutamato -cetoglutarato

El amoníaco es altamente tóxico, una de las posibles razones de su toxicidad es que al aumentar los niveles de amoníaco en las mitocondrias, invierte la reacción de la *glutamato deshidrogenasa* hacia la formación de L-glutamato. El -cetoglutarato, un intermediario del ciclo de Krebs, va desapareciendo y por consiguiente se deprime esta vía de oxidación y por consiguiente la formación de ATP, indispensable para el cerebro.

**3- Desaminación no oxidativa**

Las reacciones de desaminación no oxidativa están catalizadas por enzimas denominadas *deshidratasas* que requieren como grupo prostético fosfato de piridoxal. Por ejemplo: *serina deshidratasa*  actúa sobre serina y  *treonina deshidratasa* actúa sobretreonina, dando como productos piruvato y -cetobutirato respectivamente. En ambas reacciones se libera el grupo amino como NH4+

**Transporte de amonio desde los tejidos periféricos al hígado o al riñón**

El amonio producido en los tejidos extrahepáticos como el cerebro, músculo, intestino, etc., debido a su toxicidad, debe ser transportado al hígado o riñón para su eliminación. Todos los tejidos son capaces de sintetizar glutamina, un compuesto neutro que puede ser transportado por sangre. En el músculo existe otra vía para eliminar el amonio, además de la síntesis de glutamina, denominado ciclo de la Glucosa-alanina.

* **Formación de Glutamina.**

El amoníaco es transportado desde los tejidos periféricos al hígado o a los riñones, en forma de un compuesto no tóxico, la glutamina. La síntesis de glutamina tiene lugar por acción de la enzima mitocondrial *glutamina sintetasa* que cataliza la siguiente reacción:

Mg++

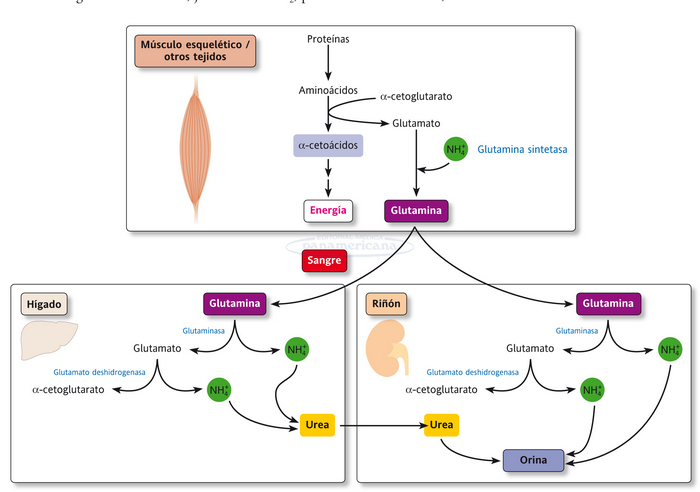
ATP + NH4+ + glutamato ADP + Pi + glutamina + H+

*glutamina sintetasa*

La glutamina es transportada, por vía sanguínea, hasta el hígado donde por acción de la enzima mitocondrial *glutaminasa* se hidroliza a glutamato y amonio. Esta enzima es muy activa en riñón y en hígado. En riñon el NH4+ interviene regulando el equilibrio ácido-base pudiendo ser excretado como tal, en hígado el NH4+ se convierte en urea, un compuesto no tóxico, siendo este excretado por riñón.

*glutaminasa*

Glutamina + H2O Glutamato + NH4+



**Fig 7.3** Transporte de Nitrógeno al hígado y al riñón. Feduchi, Blasco, Romero, Yañez. Bioquímica. 1° Edición.

* **Formación de alanina**

El grupo amino de los aminoácidos degradados en músculo es transferido al cetoglutarato, formando glutamato. Una parte de este aminoácido transamina con piruvato proveniente de la vía glicolítica y forma alanina. La alanina es un aminoácido neutro que se transporta por sangre al hígado donde nuevamente transamina produciendo **piruvato** y **glutamato.** El piruvato por gluconeogénesis sintetiza glucosa, ésta es transportada por sangre al músculo y el glutamato ingresa a mitocondria liberando el amoníaco en la reacción de desaminación oxidativa.

**CICLO DE LA UREA**

Los átomos de nitrógeno de los grupos alfa amino, separados de los aminoácidos durante su degradación oxidativa, son excretados por orina en forma de urea, amoníaco o ácido úrico, según la especie. En los peces, el amoníaco es el producto final excretado directamente por el riñón (amonotélicos). Los pájaros y los reptiles lo excretan en forma de un compuesto semisólido, el ácido úrico (uricotélicos), mientras que el hombre y animales terrestres lo hacen bajo la forma de urea, compuesto no tóxico y soluble (ureotélicos).

La formación de urea tiene lugar en el hígado y es catalizada por una secuencia de reacciones enzimáticas que se denomina Ciclo de la Urea, en el cual se utiliza CO2 yel amoníaco proveniente de las reacciones de desaminación oxidativa o de la glutaminasa , incorporándose luego otro resto amino proveniente del aspartato. Por cada molécula de urea formada se consume un CO3H-, por lo tanto el ciclo sirve para eliminar dos productos de “desecho” (NH3 y CO2).

La capacidad de sintetizar y excretar urea tiene sin embargo un gran costo energético ya que se requieren cuatro uniones fosfatos de alta energía. Estas son proporcionadas por los 3 ATP sumado a la hidrólisis de PPi. La urea es transportada por la sangre a los riñones y se elimina por orina.

**Grupo amino entrante** a través de *glutamato* *deshidrogenasa* mitocondrial o *glutaminasa*

*Citosol*

NH2 -C-NH2

⎢⎢ *Membrana*

O *mitocondrial interna*

Urea

**Ornitina**

**5**

H2O *Sistema de transporte*

*específico*  **Ornitina** 2ATP + CO2 + NH4+ + H2O

**Arginina**

**1**

Fumarato **4** 2ADP + Pi

**2** NH2

C=O

O-PO3H2

**Arginosuccinato**  Carbamil-fosfato Pi

**3**

**Citrulina** *Matriz*

AMP + PPi *Mitocondrial*

ATP **Citrulina**

Aspartato

**ENZIMAS:**

**1- *Carbamilfosfato Sintetasa***

**2- O*rnitina Transcarbamilasa***

**3- A*rgininosuccinato Sintetasa***

**4- A*rgininosuccinasa***

**5- A*rginasa***

**Transaminación con Oxalacetato**

Aminoácidos

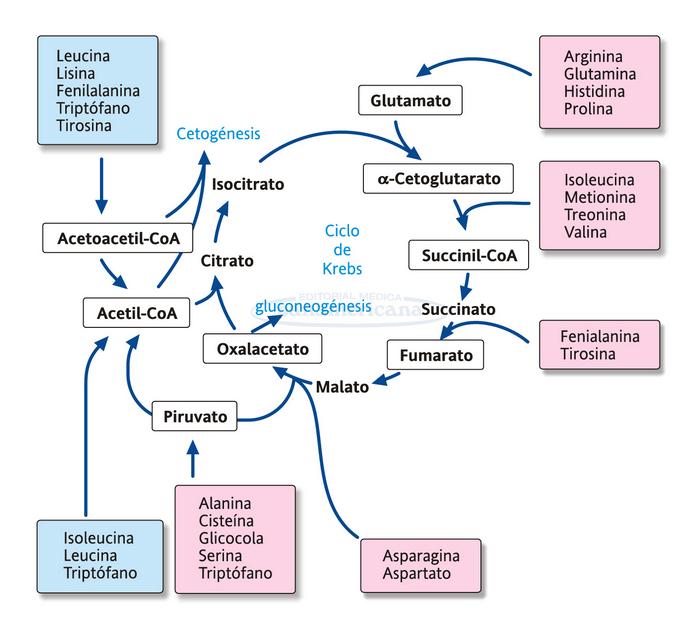
**Fig 6.3** Ciclo de la Urea

**DESTINO DEL ESQUELETO CARBONADO DE LOS AMINOÁCIDOS**

Como se ha visto, la primera etapa en el catabolismo de los aminoácidos comprende la eliminación del nitrógeno Esto generalmente se realiza por transaminación. Los esqueletos carbonados libres de nitrógeno convergen para formar solamente cinco productos, todos los cuales se incorporan al ciclo de Krebs para la oxidación completa a CO2 y H2O. Estos esqueletos carbonados también pueden convertirse en otros metabolitos por lo que se los clasifica como:

* Gluconeogénicos: son los aminoácidos, que al degradarse, producen piruvato o compuestos intermediarios del ciclo de Krebs que pueden transformarse en oxalacetato, y ser derivados a la síntesis de glucosa por gluconeogénesis. Ej: aspártico, alanina, metionina, valina, etc.
* Cetogénicos: son los aminoácidos que se convierten en Acetil-CoA o acetoacetato y finalmente forman cuerpos cetónicos por cetogénesis. Ej: leucina y lisina
* Glucogénicos y cetogénicos: Algunos aminoácidos, al ser degradados pueden dar intermediarios gluconeogénicos y cetogénicos. Ejemplos: fenilalanina y tirosina dan como productos fumarato (gluconeogénico) y acetoacetato (cetogénico)

La siguiente figura nos muestra el destino de los esqueletos carbonados de los aminoácidos:



**Fig 6.4**  Destino del esqueleto carbonado de los aminoácidos Feduchi, Blasco, Romero, Yañez. Bioquímica. 1° Edición.

**CONVERSIÓN DE AMINOÁCIDOS A PRODUCTOS ESPECIALIZADOS**

Se observó que ciertas bacterias poseen enzimas que catalizan la descarboxilación de aminoácidos. Esta reacción da lugar a la formación de aminas biógenas, que en general tienen intensa actividad fisiológica. Posteriormente se comprobó que en tejidos animales también existen enzimas que catalizan este tipo de reacciones. Las reacciones de descarboxilación requieren fosfato de piridoxal, muchas aminas biológicas formadas por este mecanismo son sustancias de importancia funcional y tienen gran importancia médica o farmacológica. A continuación se dan algunos ejemplos:

**Histidina**

Es precursora de histamina por descarboxilación. En los tejidos de mamíferos, esta reacción es catalizada por una descarboxilasa. La histamina es una amina biógena de gran actividad fisiológica. Es vasodilatadora, disminuye la presión sanguínea, pudiendo provocar un colapso vascular, en grandes dosis. Produce constricción de bronquíolos, estimula la secreción de HCl y pepsina en el estómago. Es almacenada en células cebadas, liberada bruscamente en respuesta al ingreso de agentes que provocan reacciones alérgicas e inflamatorias. Algunos antihistamínicos empleados para tratar fenómenos alérgicos son fármacos de estructura química análoga a la de histamina y actúan como antagonistas. Una vez producida, la histamina es rápidamente degradada por la histaminasa, que la pasa a un compuesto inactivo.

**Fenilalanina y tirosina**

Pueden seguir una vía metabólica que conduce a la síntesis de sustancias de gran actividad fisiológica llegando a la formación de catecolaminas, adrenalina y noradrenalina. En esta vía existen dos reacciones importantes desde el punto de vista médico. Una de ellas es la catalizada por la enzima *fenilalanina hidroxilasa* que cataliza la reacción de síntesis de tirosina a partir de fenilalanina. Esta enzima requiere como cofactor H4-Biopterina que se oxida a H2-Biopterina y en la reacción de reducción del cofactor se necesita NADPH. En la enfermedad de origen genético denominada fenilcetonuria esta vía de síntesis esta disminuída o no se produce, principalmente por un error a nivel genético de la enzima *fenilalanina hidroxilasa*

Siguiendo la vía de síntesis de las catecolaminas, otra enzima de las mismas características cataliza la reacción de síntesis de DOPA (dihidroxi fenilalanina) a partir de tirosina. La enzima denominada *tirosina hidroxilasa* suele estar alterada en pacientes albinos, estos pacientes no pueden sintetizar DOPA precursor de la melanina, compuesto que da la pigmentación a piel y cabellos.

**Triptofano**

Este aminoácido es precursor de muchos compuestos de fundamental importancia para el hombre: la serotonina, poderoso vasoconstrictor y estimulante de la contracción del músculo liso.

**Funciones precursoras de los aminoácidos**

Los aminoácidos son utilizados primordialmente para la síntesis de proteínas, además sirven como precursores de otros compuestos nitrogenados.

Los compuestos derivados de aminoácidos, que son fisiológicamente muy importantes, incluyen entre otros al grupo hem, purinas, pirimidinas, hormonas y creatina, Ejemplos:

**Glicina**: La molécula entera de glicina es utilizada para la síntesis de purinas y algunos de sus átomos se requieren en la síntesis del Hem.

**Tirosina:** Es precursora de hormonas tiroideas: triyodotironina y tiroxina.

**Metionina:** Forma parte del principal portador de grupos metilos, la S-adenosilmetionina (SAM)

**Glutamina y glutamato:** Por descarboxilación del glutamato se sintetiza un inhibidor o depresor del impulso nervioso, el ácido -aminobutírico (GABA). La reacción requiere fosfato de piridoxal.

**Fenilalanina y tirosina:** Aminoácidos precursores de la síntesis de catecolaminas.

**Serina:** Interviene como dador de unidades de un carbono en la síntesis de derivados de folato.

**PROBLEMAS DE APLICACIÓN**

**1) Realice un esquema de la digestión de proteínas indicando:**

a) Lugar y forma de activación de los zimógenos correspondientes

b) Explique porqué las enzimas que participan en la digestión de proteínas son liberadas como zimógenos?

**2)** Nombrar los α-Cetoácidos que se forman por transaminación de los siguientes aminoácidos:

a) Alanina

b) Aspartato

c) Glutamato

d) Fenilalanina

e) Tirosina

**3)** Con respecto a la Desaminación Oxidativa

a) Esquematice la reacción, indique enzimas y cofactores

b) Explique su regulación y su función metabólica

c)¿Qué consecuencias metabólicas se producen por un incremento de la concentración de amoniaco en sangre?

**4)** Elija la respuesta correcta: en la reacción de transaminación que se muestra a continuación, ¿cuál de los siguientes productos corresponden a X y Y?

*OXALACETATO*

*GLUTAMATO*

X

*Y*

a- Alanina, -cetoglutarato

b- Glutamato, cetoglutarato

c- Aspartato, -cetoglutarato.

d- Piruvato, aspartato.

e- Piruvato, alanina.

**5)** Los tres carbonos de lactato y de alanina poseen estados de oxidación idénticos y los animales pueden emplear cualquiera de ellos como fuente carbonada para combustible metabólico. Compárese el rendimiento neto en ATP (moles de ATP por mol de sustrato) para la oxidación completa a CO2 y H2O, del lactato frente a la alanina cuando se incluye la excreción de nitrógeno en forma de urea.

**6)**  ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre el ciclo de la urea es correcta?

a- Los dos átomos de nitrógeno que se incorporan en la urea entran al ciclo como amonio y

alanina.

b- La urea se produce directamente por la hidrólisis de la ornitina.

c- Se requiere ATP para la reacción en la que el argininosuccinato se desdobla para formar

arginina.

d- La urea urinaria aumenta cuando la dieta es abundante en proteínas.

e- El ciclo de la urea ocurre exclusivamente en el citosol.

**7)** ¿Cuál de los siguientes conceptos es correcto?

a- El aumento en la gluconeogénesis a partir de aminoácidos produce un descenso en la formación de urea.

b- Todos los aminoácidos esenciales son gluconeogénicos.

c- La ornitina y la citrulina se encuentran en las proteínas tisulares.

d- La cisteína es un aminoácido esencial en los individuos que consumen una dieta carente de metionina.

e- En presencia de las fuentes dietéticas adecuadas de tirosina, la fenilalanina no es un aminoácido esencial.

**8)** ¿Cuál de las siguientes afirmaciones es la correcta si se trata de un lactante masculino de una semana de edad con fenilcetonuria clásica?

a- La tirosina no es un aminoácido esencial para este lactante.

b- Hay niveles elevados de fenilpiruvato en su orina.

c- El tratamiento debe comenzar en el primer año de edad.

d- Debe iniciarse una dieta libre de fenilalanina de inmediato.

e- Cuando el lactante llegue a la edad adulta, se recomienda suspender el tratamiento dietético